5 月 May
2020, 63(5): 558 – 564
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.05.004

乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫的毒力及对其解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响

高祖鹏[1,2], 郭井菲[2], 何康来[2], 王振营[2,*]

(1. 吉林农业大学生物防治研究所, 天敌昆虫应用技术工程研究中心, 长春 130118;
2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要:【目的】为了研究乙基多杀菌素对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 幼虫的毒力及作用机制。【方法】以氯虫苯甲酰胺为对照,采用表面涂抹法测定了乙基多杀菌素对草地贪夜蛾 2, 3 和 4 龄幼虫的 LC_{50} 和 LC_{90}。采用酶联免疫吸附法(ELISA),测定不同浓度乙基多杀菌素(0.127, 0.183, 0.250, 0.400 和 0.572 mg/L)处理 48 h 后草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内多功能氧化酶(MFO)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、羧酸酯酶(CarE)以及乙酰胆碱酯酶(AchE)的活性。【结果】与氯虫苯甲酰胺相比,乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫具有更高的毒力,处理 48 h 后对 2, 3 和 4 龄幼虫的 LC_{50} 值分别为 0.21, 0.34 和 0.59 mg/L, LC_{90} 值分别为 0.59, 0.75 和 2.01 mg/L。经过乙基多杀菌素处理后,草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内 MFO 和 AchE 活性均表现随着浓度的增加而显著增加,二者均在 0.572 mg/L 处理时活性最高,分别为 52.23 和 23.98 U/mg pro; CarE 活性在低浓度乙基多杀菌素处理(0.127 和 0.183 mg/L)下相对于溶剂对照(0.1% Tween-80)无显著变化,随着浓度增加至 0.400 与 0.572 mg/L 时,其活性显著增加; GST 活性表现为随着乙基多杀菌素浓度增加而增加的特点, 当处理浓度为 0.400 与 0.572 mg/L 时,其活性无显著性差异。【结论】乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫的杀虫效果优于氯虫苯甲酰胺,尤其对 4 龄幼虫效果最为明显;在不同浓度的乙基多杀菌素处理条件下,草地贪夜蛾幼虫体内的 CarE, MFO 和 AchE 活性有所增高。

关键词: 草地贪夜蛾; 乙基多杀菌素; 毒力测定; 解毒酶; 靶标酶
中图分类号: Q965.9　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2020)05-0558-07

Toxicity of spinetoram and its effects on the detoxifying enzyme and acetyl cholinesterase activities in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae

GAO Zu-Peng[1,2], GUO Jing-Fei[2], HE Kang-Lai[2], WANG Zhen-Ying[2,*] (1. Engineering Research Center of Natural Enemy Insects, Institute of Biological Control, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. State Key Laboratory of Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract:【Aim】The study aims to evaluate the toxicity and mechanism of action of spinetoram against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*.【Methods】The LC_{50} and LC_{90} values of spinetoram against the 2nd, 3rd and 4th instar larvae of *S. frugiperda* were determined by diet-overlay bioassays with chlorantraniliprole as the control. The activities of mixed-functional oxidase (MFO), glutathione-S-

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0300101); 中国农业科学院重大科研任务(CAAS-ZDRW202007); 现代农业产业技术体系(CARS-02)
作者简介: 高祖鹏, 男, 1996 年 5 月生, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 研究方向为害虫生物防治, E-mail: gaozupeng0505@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangzy61@163.com
收稿日期 Received: 2019-12-29; 接受日期 Accepted: 2020-04-10

transferase (GST), carboxylesterase (CarE) and acetyl cholinesterase (AchE) in the 3rd instar larvae of *S. frugiperda* treated by different concentrations of spinetoram (0.127, 0.183, 0.250, 0.400 and 0.572 mg/L) at 48 h post treatment were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 【Results】Compared with chlorantraniliprole, spinetoram had higher toxicity to *S. frugiperda* larvae. The LC_{50} values of spinetoram against the 2nd, 3rd and 4th instar larvae at 48 h post treatment were 0.21, 0.34 and 0.59 mg/L, and the LC_{90} values were 0.59, 0.75 and 2.01 mg/L, respectively. When the 3rd instar larvae were treated with spinetoram, the MFO and AchE activities increased significantly as the treatment concentration increased, and reached the highest (52.23 and 23.98 U/mg pro, respectively) at the concentration of 0.572 mg/L. When the 3rd instar larvae were exposed to the low concentrations of spinetoram (0.127 and 0.183 mg/L), the CarE activity showed no significant change as compared with the vehicle control (0.1% Tween-80), but significantly increased as the concentration increased to 0.400 and 0.572 mg/L. The GST activity increased significantly as the concentration of spinetoram increased, but showed no significant difference between the treatment concentrations of 0.400 and 0.572 mg/L. 【Conclusion】Spinetoram is highly effective against *S. frugiperda*, especially to its 4th instar larvae, as compared with chlorantraniliprole. The activities of CarE, MFO and AchE in *S. frugiperda* larvae increase after exposure to different concentrations of spinetoram.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; spinetoram; toxicity test; detoxification enzyme; target enzyme

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*，鳞翅目(Lepidoptera)夜蛾科(Noctuidae)，又称秋黏虫，是原产于美洲热带和亚热带地区的一种多食性、迁飞性重大农业害虫(Todd, 1980)。草地贪夜蛾具有繁殖能力强、迁飞距离远、寄主植物范围广和取食能力强等特点，若防控不及时，会对农业生产造成严重危害(郭井菲等, 2018)。草地贪夜蛾于 2016 年入侵非洲，2018 年入侵到印度、缅甸，并于 2019 年 1 月入侵我国云南(Jing *et al*., 2019)，到 9 月已蔓延至全国 26 个省份，对我国玉米等农作物的产量构成了威胁(姜玉英等, 2019)。由于化学防控具有见效快、成本低的特点，因此化学农药是防治草地贪夜蛾重要手段之一。

乙基多杀菌素是美国陶氏益农公司研发的新一代杀虫剂，其具有杀虫谱广、杀虫效果好、用量低、对动物和环境较友好等特点，可用于多种鳞翅目害虫的防控(邱水林等, 2011)。在非洲地区，乙基多杀菌素作为防治草地贪夜蛾的主要农药之一被大面积推广使用(崔丽等, 2019)。在我国，乙基多杀菌素也对草地贪夜蛾表现出良好的防治效果。在室内用 25 mg/mL 乙基多杀菌素浸泡玉米叶片 24 h 和 48 h 后饲喂的草地贪夜蛾 3 龄幼虫的死亡率分别达到 78% 和 97% (郑群等, 2019)。田间试验施用乙基多杀菌素 3 d 后，草地贪夜蛾的虫口减退率可达 90%，5 d 后达 93%，防效明显(赵胜园等, 2019)。

任何农药长时间大量使用，都可能导致害虫产生抗药性。在波多黎各圣伊莎贝尔地区，2012 年使用乙基多杀菌素可有效地防治草地贪夜蛾(Belay *et al*., 2012)，但到 2018 年，该地区田间草地贪夜蛾已对乙基多杀菌素产生 14 倍抗性(Gutiérrez-Moreno *et al*., 2019)。在昆虫体内，谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase, GST)、羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE)和多功能氧化酶(mixed-functional oxidase, MFO)等解毒酶在应对化学农药及其他有毒物质过程中发挥着重要的作用，研究认为生物体内存在一套完整的解毒代谢系统，是不同作用靶标的杀虫剂之间存在交互作用的主要原因之一(Rodríguez *et al*., 2002; Kim *et al*., 2004; Lumjuan *et al*., 2005)。不同地区的施药程度与害虫对杀虫剂的抗性密切相关，化学农药的使用不当将导致害虫抗药性的产生(王芹芹等, 2019)。因此，了解草地贪夜蛾抗性机制对合理有效防治草地贪夜蛾具有重要意义。

本研究首次测定乙基多杀菌素对草地贪夜蛾不同龄期的室内毒力，确定乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫有效剂量；在此基础上，选择不同浓度(0.127, 0.183, 0.250, 0.400 和 0.572 mg/L)乙基多杀菌素处理的草地贪夜蛾幼虫，检测解毒酶(CarE, GST 和 MFO)和乙酰胆碱酯酶(acetyl cholinesterase, AchE)活性的变化，揭示解毒酶和乙酰胆碱酯酶在草地贪夜蛾体内的变化趋势，为明确乙基多杀菌素对草地贪夜蛾的作用机制、乙基多杀菌素的合理应

用及草地贪夜蛾抗药性研究等奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

草地贪夜蛾初始种群于 2019 年 1 月采集于云南省德宏州芒市(24.42°N, 98.60°E)冬玉米田,在中国农业科学院植物保护研究所玉米害虫组,于人工气候箱(上海一恒科学仪器有限公司, MGC-450HP-2)内(温度 26 ± 1℃,相对湿度 65% ±5%,光周期 14L∶10D),利用夜蛾科通用人工饲料饲养,饲养期间不接触任何农药试剂。取饲养至 F_3 代的幼虫用于实验。

1.2 供试药剂

乙基多杀菌素原药、氯虫苯甲酰胺原药均由科迪华农业科技(上海)有限公司提供;二甲基亚砜(DMSO)购于北京睿恒均安科技有限公司;乙酰胆碱酯酶(AchE)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、羧酸酯酶(CarE)和多功能氧化酶(MFO)活性试剂盒均采购于北京华佰泰生物科技有限公司。

1.3 室内毒力测定

首先将乙基多杀菌素和氯虫苯甲酰胺原药用 DMSO 试剂溶解,后用含 0.1% Tween-80 蒸馏水分别稀释成 5 ~6 个浓度梯度。

采用表面涂抹法进行生物测定。使用移液器将未凝固的人工饲料加至 24 孔细胞培养板中,置于室温下自然凝固。用移液器将系列梯度浓度的试剂加入饲料表面,每孔加入药剂体积为 50 μL,待饲料表面干燥后,用毛笔选取长势一致且活跃的 3 龄初幼虫,并覆盖一层透气塑料膜,防止幼虫逃脱。分别在 48 h 后检测结果。每个浓度处理 24 头幼虫,重复 3 次,设置涂抹为含 0.1% 的 Tween-80 蒸馏水为对照。以毛笔轻触幼虫身体,无反应者视为死亡。

实验结果使用 Excel 2010 和 PoloPlus 计算各杀虫剂对草地贪夜蛾不同龄期幼虫的毒力回归曲线和致死中浓度。

1.4 乙基多杀菌素处理后草地贪夜蛾 MFO, GST, CarE 和 AchE 活性的测定

1.4.1 药液配制:用 0.1% Tween-80 水溶液将乙基多杀菌素原药分别按照 LC_5, LC_{15}, LC_{30}, LC_{60} 和 LC_{80} 的处理浓度(由 1.3 节测定结果经 PoloPlus 计算得出,即 0.127, 0.183, 0.250, 0.400 和 0.572 mg/L)配制获得不同浓度的处理药液,以 0.1% Tween-80 水溶液为对照。

1.4.2 酶源制备:根据张丽丽(2014)的方法配制酶源,并加以改进。分别取用上述不同浓度的乙基多杀菌素处理和对照液饲喂 3 龄幼虫,在 48 h 后每个处理随机挑选 5 头活虫置于研钵中,倒入适量的液氮将幼虫粉碎,并加入预冷的生理盐水;然后摇匀转入离心管,12 000 g 4℃离心 15 min,取上清液作为酶源备用。

1.4.3 酶活性测定:使用全波长扫描多功能读数仪(Multi-Mode Microplate Reader, FlexStation 3, Molecular Devices, 美国)测定酶活性。

各酶活性测定方法参考试剂盒说明书。采用酶联免疫吸附法(ELISA),操作方法如下:准备试剂,样品和标准品(由试剂盒所提供);加入准备好的标准品和样品,37℃反应 30 min;洗涤 5 次,加入酶标试剂,37℃反应 30 min;洗涤 5 次,加入显色液,37℃反应 10 min;加入终止液,15 min 内读取 OD 值。

标准曲线及酶活性测定:标准物的浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,在坐标纸上绘出标准曲线,根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度;再乘以稀释倍数;或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式,将样品的 OD 值代入方程式,计算出样品浓度,再乘以稀释倍数,即为样品的实际浓度。

1.4.4 蛋白含量测定:利用考马斯亮蓝方法测定蛋白浓度(Bradford, 1976)。

1.5 数据分析

实验数据用 Excel 2013, PoloPlus 和 SPASS 22.0 处理,采用 Tukey 氏检验进行差异显著性检验,显著水平设定为 $P=0.05$。

2 结果

2.1 乙基多杀菌素和氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾幼虫的毒力

乙基多杀菌素和氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾 2, 3 和 4 龄幼虫的室内毒力测定见表 1。由表 1 可得,乙基多杀菌素与氯虫苯甲酰胺均对 2 和 3 龄幼虫均具有较好的杀虫活性,乙基多杀菌素对 2 和 3 龄幼虫的致死中浓度(LC_{50})分别为 0.21 和 0.34 mg/L;氯虫苯甲酰胺对 2 和 3 龄幼虫的 LC_{50} 分别为 2.66 和 4.52 mg/L,分别为乙基多杀菌素的 12.67 和 13.29 倍。随着处理龄期增至 4 龄时,氯虫苯甲酰胺的杀虫活性有所降低,LC_{50} 为 61.49 mg/L;而在同一龄期下,乙基多杀菌素的 LC_{50} 小于氯虫苯甲酰胺,为 0.59 mg/L,说明乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫具有良好的杀虫活性。

表 1　乙基多杀菌素和氯虫苯甲酰胺对草地贪夜蛾不同龄期幼虫的毒力

Table 1　Toxicities of spinetoram and chlorantraniliprole against the 2nd, 3rd and 4th instar larvae of *Spodopetera frugiperda*

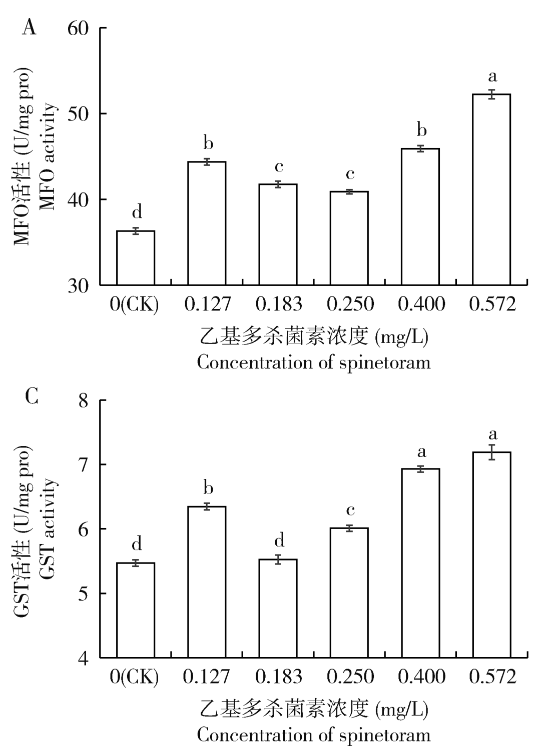
药剂 Pesticide	龄期 Instar	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 *r*	斜率 Slope ± *SE*	LC_{50} (95% FL) (mg/L)	LC_{90} (95% FL) (mg/L)
乙基多杀菌素 Spinetoram	2 龄 2nd instar	$y = 3.763x + 7.145$	0.986	2.28 ± 0.20	0.21 (0.18 – 0.24)	0.59 (0.50 – 0.76)
	3 龄 3rd instar	$y = 3.594x + 6.606$	0.986	3.80 ± 0.48	0.34 (0.28 – 0.40)	0.75 (0.66 – 0.88)
	4 龄 4th instar	$y = 2.223x + 5.645$	0.985	2.41 ± 0.24	0.59 (0.47 – 0.72)	2.01 (1.64 – 2.60)
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	2 龄 2nd instar	$y = 1.622x + 4.281$	0.986	1.17 ± 0.18	2.66 (2.24 – 3.25)	14.93 (10.25 – 26.00)
	3 龄 3rd instar	$y = 2.326x + 3.669$	0.951	2.74 ± 0.55	4.52 (3.05 – 5.61)	13.30 (10.58 – 20.63)
	4 龄 4th instar	$y = 1.142x + 2.930$	0.989	1.24 ± 0.15	61.49 (45.46 – 90.31)	669.96 (351.86 – 1836.17)

FL：置信区间 Confidence limit.

2.2　乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫体内解毒酶活性的影响

2.2.1　MFO：经过不同浓度乙基多杀菌素处理后，草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内 MFO 活性变化表现为先升高、降低、再升高的趋势（图 1：A）。草地贪夜蛾幼虫取食 0.127 mg/L 乙基多杀菌素后，MFO 活性显著性上升；随着浓度增加至 0.183 和 0.250 mg/L 时，活性下降，但均显著高于对照水平（$P < 0.05$）；随着处理浓度继续增加，MFO 活性再次升高，于处理浓度为 0.572 mg/L 时，达到最高值，为对照组的 1.43 倍。

2.2.2　CarE：草地贪夜蛾幼虫取食 0.127，0.183 和 0.250 mg/L 浓度的乙基多杀菌素后，CarE 活性与对照相比无显著性差异（$P > 0.05$）；随着浓度的逐渐增加，CarE 活性也逐渐增加，当处理浓度达到 0.572 mg/L 时，CarE 活性达到最高值，为 20.52 U/mg pro（图 1：B）。



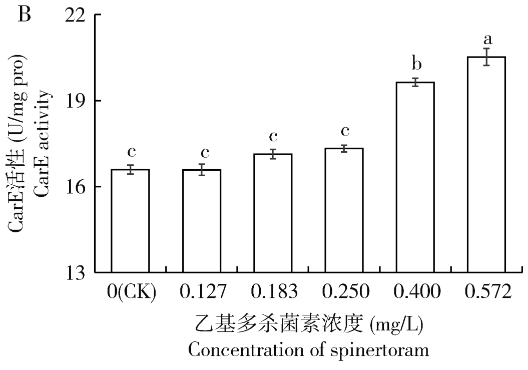


图 1　不同浓度乙基多杀菌素对草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内解毒酶活性的影响

Fig. 1　Effect of spinetoram at different concentrations on the activities of detoxifying enzymes in the 3rd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

A：MFO；B：CarE；C：GST. CK：0.1% Tween-80. 幼虫分别经过不同浓度乙基多杀菌素处理 48 h 后测定酶活性；柱上标有不同字母表示显著差异（Tukey 氏检验，$P < 0.05$）。After the larvae were treated with different concentrations of spinetoram for 48 h, the enzyme activity was measured. Histograms with different letters indicate significant difference (Tukey's test, $P < 0.05$). 图 2 同 The same for Fig. 2.

2.2.3 GST：用 5 种浓度乙基多杀菌素处理草地贪夜蛾 48 h 后，幼虫体内 GST 活性逐渐增加；当处理浓度为 0.183 mg/L 时，GST 活性下降，且与对照组活性无显著性差异（$P>0.05$）；随着处理浓度的继续增加，GST 活性显著升高（$P<0.05$），但处理浓度为 0.400 和 0.572 mg/L 时，GST 活性之间无显著性差异（$P>0.05$）（图 1：C）。

2.3 乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫体内 AchE 活性的影响

幼虫体内 AchE 活性的变化为先上升、降低、再上升的趋势（图 2），与 MFO 的变化趋势相同。当浓度为 0.572 mg/L 时，AchE 活性最高，为对照组的 1.36 倍；其次为浓度为 0.183 和 0.400 mg/L 时，AchE 活性分别为 21.76 和 21.40 U/mg pro；各浓度处理组 AchE 活性均显著高于对照（$P<0.05$）。

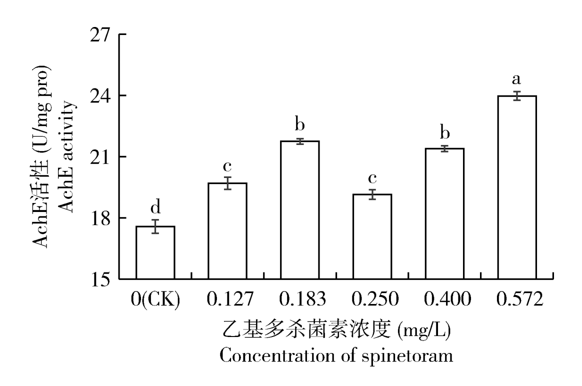


图 2 不同浓度乙基多杀菌素对草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内 AchE 活性的影响

Fig. 2 Effect of spinetoram at different concentrations on the AchE activity in the 3rd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

3 结论与讨论

乙基多杀菌素是一种具有低毒、高效特点的新型杀虫剂，其有效成分是从土壤中放线菌刺糖多孢菌 *Saccharopolyspora spinosa* 发酵产生的天然产物；其降解主要通过微生物完成的，因此乙基多杀菌素具有较高的安全性。室内及田间试验表明，乙基多杀菌素对草地贪夜蛾幼虫具有良好的防治效果（赵胜园等，2019；郑群等，2019）。本研究发现，乙基多杀菌素对 2，3 和 4 龄幼虫的 LC_{50} 值分别为 0.21，0.34 和 0.59 mg/L，LC_{90} 值分别为 0.59，0.75 和 2.01 mg/L（表 1）。与氯虫苯甲酰胺相比，乙基多杀菌素对不同龄期草地贪夜蛾幼虫具有更好的杀虫活性，具有更好的应用前景。

乙基多杀菌素通过刺激神经系统中的乙酰胆碱受体（acetylcholine receptor，AChR），延长了其反应速度，导致了其不能产生动作电位，从而使靶标害虫产生异常的兴奋和非功能性肌肉收缩，最终导致昆虫的中毒死亡（Salgado，1998）。多杀菌素类杀虫剂的作用靶标为烟碱型乙酰胆碱受体（nicotinic acetylcholine receptor，nAChR），其在突触间的神经递质传递的过程中起着重要作用。昆虫体内的 AchE 能够在胆碱神经突触处通过快速水解兴奋性神经递质乙酰胆碱而终止神经冲动的传递，其敏感性的变化是昆虫产生抗药性的原因之一（孟琳琳等，2010）。研究发现乙基多杀菌素对小菜蛾 *Plutella xylostella* 体内乙酰胆碱酯酶活性的影响随着抗性的变化而变化（尹飞等，2016）。本研究发现，随着乙基多杀菌素浓度增加，草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内的 AchE 活性逐渐增加，并且在处理浓度为 0.572 mg/L 时活性最高（图 2）。经乙基多杀菌素处理后，草地贪夜蛾幼虫体内 AchE 活性逐渐增加，推断其在毒杀过程中起着一定的作用，其具体作用方式需进一步探讨。MFO 作为细胞色素 P450 最主要的组成部分之一，其具有最古老、最庞大的基因（Nelson *et al.*，1993）。MFO 可通过过氧烷基、羟基化环氧化和硫醚氢化等方式参与有机磷、有机氯和拟除虫菊酯类等农药的代谢。谢丙堂等（2015）通过对经乙基多杀菌素处理的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 解毒酶活性研究发现，随着乙基多杀菌素浓度的增加，棉铃虫幼虫体内 MFO 活性逐渐增加。Sial 等（2011）用乙基多杀菌素对蔷薇斜条卷叶蛾 *Choristoneura rosaceana* 连续进行多代汰选，获得了低水平抗性品系，通过对低水平抗性的研究发现，低水平抗性品系 MFO 活性有所升高，因此他们推测 MFO 可能参与乙基多杀菌素的代谢。我们的研究发现，草地贪夜蛾经过乙基多杀菌素处理后，其幼虫体内 MFO 的活性也逐渐增加（图 1：A），因此推断 MFO 是草地贪夜蛾对乙基多杀菌素产生抗性的潜在因素。

CarE 作为一个水解酶，能够与进入昆虫体内的毒剂相结合，同时其与毒物集合后，活性有所降低，但是其对毒物的固定作用也是解毒机理的一部分。昆虫 GST 可增加虫体对有毒物质的可溶性并将其排出体外，从而达到解毒代谢的作用；同时在受到外界有毒物质刺激时，其体内的 GST 活力也会发生变化。通过研究乙基多杀菌素对地熊蜂 *Bombus terrestris* 的毒性研究发现，CarE 作为初级代谢酶帮

助地熊蜂代谢乙基多杀菌素；随着处理时间的加长，GST 作为次级代谢酶帮助其代谢乙基多杀菌素（王欢和徐希莲，2019）。本研究发现，GST 活性在低浓度乙基多杀菌素（0.127 mg/L）处理下就显著增加；除 0.183 mg/L 以外，其余浓度处理下 GST 活性均与对照有显著差异；在 0.400 和 0.572 mg/L 浓度下，GST 活性无显著性差异；而 CarE 活性只有在 0.400 mg/L 乙基多杀菌素处理时较对照显著增加，且在处理浓度为 0.572 mg/L 时活性达到最高（图 1）。低浓度的杀虫剂对昆虫体内酶活性的作用目前还没有统一定论，其原因可能是作用方式和作用机理不同的杀虫剂对特定解毒酶的影响不同，还可能与杀虫剂摄入量、害虫个体耐药性、群体抗药性强弱等有直接关系（全林发等，2016）。

草地贪夜蛾作为入侵并对我国粮食安全的造成严重威胁的重要害虫，化学防治是控制其为害的有效手段，但随着化学农药的大量使用，草地贪夜蛾对化学农药的抗药性将会逐渐显现。而研究草地贪夜蛾解毒酶活性的变化，是研究草地贪夜蛾产生抗药性的方法之一。本研究检测了乙基多杀菌素对草地贪夜蛾不同龄期幼虫的毒力及解毒酶活性和乙酰胆碱酯酶活性的影响，为草地贪夜蛾的有效防治及抗药性的研究提供了基础，但有关乙基多杀菌素对草地贪夜蛾抗性基因的发展有待进一步研究。

参考文献（References）

Belay DK, Huckaba RM, Foster JE, 2012. Susceptibility of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), at Santa Isabel, Puerto Rico, to different insecticides. *Fla. Entomol.*, 95(2): 476–478.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1–2): 248–254.

Cui L, Rui CH, Li YP, Wang QQ, Yang DB, Yan XJ, Guo YW, Yuan HZ, 2019. Research and application of chemical control technology against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in foreign countries. *Plant Prot.*, 45(4): 7–13. [崔丽，芮昌辉，李永平，王芹芹，杨代斌，闫晓静，郭永旺，袁会珠，2019. 国外草地贪夜蛾化学防治技术的研究与应用. 植物保护，45(4): 7–13]

Guo JF, Zhao JZ, He KL, Zhang F, Wang ZY, 2018. Potential invasion of the crop-devastating insect pest fall armyworm *Spodoptera frugiperda* to China. *Plant Prot.*, 44(6): 1–10. [郭井菲，赵建周，何康来，张峰，王振营，2018. 警惕危险性害虫草地贪夜蛾入侵中国. 植物保护，44(6): 1–10]

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodriguez-Maciel JC, DiFonzo C, 2019. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. *J. Econ. Entomol.*, 112(2): 792–802.

Jiang YY, Liu J, Xie MC, Li YH, Yang JJ, Zhang ML, Qiu K, 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. *Plant Prot.*, 45(6): 10–19. [姜玉英，刘杰，谢茂昌，李亚红，杨俊杰，张曼丽，邱坤，2019. 2019 年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护，45(6): 10–19]

Jing DP, Guo JF, Jiang YY, Zhao JZ, Sethi A, He KL, Wang ZY, 2019. Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques. *Insect Sci.*, DOI: 10.1111/1744-7917.12700.

Kim YJ, Lee SH, Lee SW, Ahn YG, 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Manag. Sci.*, 60(10): 1001–1006.

Lumjuan N, McCarroll L, Prapanthadara LA, Hemingway J, Ranson H, 2005. Elevated activity of an Epsilon class glutathione transferase confers DDT resistance in the dengue vector, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35(8): 861–871.

Meng LL, Wang JZ, Sun SL, Zhang ZY, Zhang MZ, Zhang PF, Ding J, Pu YY, 2010. Bioassay of matrine and its effect on two enzyme activities of *Plutella xylostella* larvae. *J. Beijing Univ. Agric.*, 25(2): 29–32. [孟琳琳，王进忠，孙淑玲，张志勇，张民照，张鹏飞，丁佳，蒲媛媛，2010. 苦参碱对小菜蛾幼虫毒力测定及其对害虫体内 2 种酶活性的影响. 北京农学院学报，25(2): 29–32]

Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, Guengerich FP, Estabrook RW, Feyereisen R, Gonzalez FJ, Coon MJ, Gunsalus IC, Gotoh O, 1993. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol.*, 12(1): 1–51.

Qiu SL, Lu ZP, 2011. Field efficacy of spinetoram 60 g/L suspension concentrate against the Noctuidae pests on cabbage. *Shanghai Veget.*, (3): 52–53. [邱水林，陆志平，2011. 6% 乙基多杀菌素悬浮剂防治甘蓝夜蛾类害虫田间药效试验. 上海蔬菜，(3): 52–53]

Quan LF, Zhang HJ, Sun LN, Li YY, Yan WT, Yue Q, Qiu GS, 2016. Research advances in sublethal effect of pesticide. *J. Agric.*, 6(5): 33–38. [全林发，张怀江，孙丽娜，李艳艳，闫文涛，岳强，仇贵生，2016. 杀虫剂对害虫的亚致死效应研究进展. 农学学报，6(5): 33–38]

Rodríguez MM, Bisset J, Ruiz M, Soca A, 2002. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *J. Med. Entomol.*, 39(6): 882–888.

Salgado VL, 1998. Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 60(2): 91–102.

Sial AA, Brunner JF, Garczynski SF, 2011. Biochemical characterization of chlorantraniliprole and spinetoram resistance in laboratory-selected obliquebanded leafroller, *Choristoneura*

rosaceana (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 99(3): 274 –279.

Todd EL, Poole RW, 1980. Keys and illustrations for the army-worm moths of the noctuid genus *Spodoptera* Guenée from the Western Hemisphere. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 73(6): 722 –738.

Wang H, Xu XL, 2019. Toxicity and risk of spinetoram and bifenazate to bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomol. Sin.*, 62(3): 334 –342. [王欢, 徐希莲, 2019. 乙基多杀菌素和联苯肼酯对地熊蜂的毒性及风险评估. 昆虫学报, 62(3): 334 –342]

Wang QQ, Cui L, Wang L, Liang P, Yuan HZ, Rui CH, 2019. Research progress on insecticides resistance in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 21(4): 401 –408. [王芹芹, 崔丽, 王立, 梁沛, 袁会珠, 芮昌辉, 2019. 草地贪夜蛾对杀虫剂的抗性研究进展. 农药学学报, 21(4): 401 –408]

Xie BT, Zhang LL, Wang BJ, Liang GM, 2015. Effects of spinetoram on detoxifying enzyme and acetylcholine esterase activity in *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Chin. J. Appl. Entomol.*, 52(3): 600 –608. [谢丙堂, 张丽丽, 王冰洁, 梁革梅, 2015. 乙基多杀菌素对棉铃虫解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响. 应用昆虫学报, 52(3): 600 –608]

Yin F, Chen HY, Feng X, Hu ZD, Lin QS, Li ZY, Bao HL, 2016. The role of detoxifying enzymes in the resistance of *Plutella xylostella* to spinetoram. *J. Environ. Entomol.*, 53(2): 314 –319. [尹飞, 陈焕瑜, 冯夏, 胡珍娣, 林庆胜, 李振宇, 包华理, 2016. 乙基多杀菌素抗性小菜蛾代谢解毒酶酶活性研究. 环境昆虫学报, 53(2): 314 –319]

Zhang LL, 2014. The Stress Effects of Spinetoram on *Helicoverpa armigera* and Its Influence on Natural Enemies. PhD Dissertation, China Agricultural University, Beijing. [张丽丽, 2014. 乙基多杀菌素对棉铃虫的胁迫效应及对天敌的影响. 北京: 中国农业大学博士学位论文]

Zhao SY, Yang XM, Yang XL, Song YF, Wang WH, Wu KM, 2019. Field efficacy of eight insecticides on fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Plant Prot.*, 45(4): 74 –78. [赵胜园, 杨现明, 杨学礼, 宋翼飞, 王文辉, 吴孔明, 2019. 8 种农药对草地贪夜蛾的田间防治效果. 植物保护, 45(4): 74 –78]

Zheng Q, Wang YQ, Tan YT, Ma QL, Yan WJ, Yang S, Xu HH, Zhang ZX, 2019. Bioactivity of spinetoram and its field efficiency against *Spodoptera frugiperda*. *J. Environ. Entomol.*, 41(6): 1169 –1174. [郑群, 王勇庆, 谭煜婷, 马千里, 闫文娟, 杨帅, 徐汉虹, 张志祥, 2019. 乙基多杀菌素悬浮剂对草地贪夜蛾的生物活性及田间防效. 环境昆虫学报, 41(6): 1169 –1174]

(责任编辑: 赵利辉)